

A FLAVONOL COMPOUND FROM *Chingia sakayensis* (Zeiller) Holtt AND ITS ACTIVITY AS DPPH FREE RADICAL SCAVENGER

Suatu Senyawa Flavonol dari Daun Tumbuhan Paku *Chingia Sakayensis* (Zeiller) Holtt dan Aktivitasnya Sebagai Penangkap Radikal Bebas DPPH

Suyatno

Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Negeri Surabaya (UNESA), Surabaya

Rukmaningsih

Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya

Noor Cholies Zaini, Motoo Tori

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University, Yamashiro-cho, Japan

ABSTRACT

It has been separated a flavonol 3,5,7,4'-tetrahydroxy flavone (kaemferol) from the methanol extract partitioned by ethyl acetate of the leaves of the fern *Chingia sakayensis* (Zeiller) Holtt. This was obtained as yellow crystals with m.p. 271-273°C. Characterization of its molecular structure was carried out by spectroscopic methods (UV, IR, ¹H-NMR, HMQC, HMBC, ¹³C-NMR and FABMS). Kaemferol indicated the DPPH free radical scavenger activity in TLC autography.

Keywords: *Chingia sakayensis* (Zeiller) Holtt, flavone, kaemferol, DPPH free radical scavenger activity.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya akan sumber daya alam hayati yang beraneka ragam jenisnya (*biodiversity*). Salah satu sumber daya alam hayati tersebut adalah berbagai macam tumbuhan, mulai tumbuhan tingkat rendah (jamur, lumut, paku-pakuan, dan lain-lain) sampai tumbuhan tingkat tinggi (berbagai jenis Angiospermae) yang menghuni berbagai tipe habitat [1].

Pteridophyta (tumbuhan paku) merupakan salah satu divisi tumbuhan yang tumbuh di kawasan Indonesia. Jones [2] memperkirakan jumlah spesies tumbuhan paku yang tersebar di seluruh dunia lebih dari 10.000 jenis. Di Indonesia diperkirakan terdapat sebanyak 1.300 spesies tumbuhan paku [3]. Berbagai jenis spesies tumbuhan paku telah dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat untuk memenuhi kebutuhan hidupnya yaitu sebagai tanaman hias, bahan obat tradisional, bahan makanan, tanaman pelindung dan pupuk hijau [4].

Thelypteridaceae merupakan salah satu famili tumbuhan paku yang terbesar, terdiri dari 30 genus dan 975-1217 spesies [5]. Tumbuhan paku *Chingia sakayensis* merupakan salah satu spesies tumbuhan paku yang termasuk dalam genus *Chingia* dan famili Thelypteridaceae. Spesies tumbuhan paku ini banyak tersebar di Thailand, Malaysia, Serawak, Sumatra dan Jawa [6].

Penelitian terhadap senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan paku *Chingia sakayensis* belum pernah dilaporkan. Demikian pula uji bioaktivitas terhadap ekstrak dan isolat dari tumbuhan tersebut. Namun demikian secara kemotaksonomi dapat diduga bahwa dari tumbuhan paku *Chingia sakayensis* akan dapat ditemukan senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid, steroid, fenilpropanoid, poliketida, turunan asam benzoat dan lipid.

Dalam makalah ini akan dilaporkan suatu senyawa derivat flavon yakni 3,5,7,4'-tetrahidroksi flavon (kaemferol), yang telah berhasil diisolasi dari fraksi etil asetat ekstrak metanol daun tumbuhan paku *Chingia sakayensis* dan uji pendahuluan aktivitas penangkap radikal bebas DPPH dari senyawa tersebut yang dilakukan dengan metode KLT autografi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Dalam penelitian ini sample daun tumbuhan paku *Chingia sakayensis* diperoleh dari kawasan hutan Kletak, desa Nongko Jajar, Kecamatan Tutar, Pasuruan, Jawa Timur. Sebelum diteliti lebih lanjut, sampel tumbuhan tersebut diidentifikasi di LIPI Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur.

Metode

Dalam penelitian isolasi senyawa flavonoid dari daun *Chingia sakayensis* dilakukan dengan metode

maserasi, pemisahan dilakukan dengan metode kromatografi, pemurnian dilakukan dengan cara rekristalisasi sedangkan karakterisasi senyawa flavonoid dengan metode spektroskopi (UV, IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan FABMS).

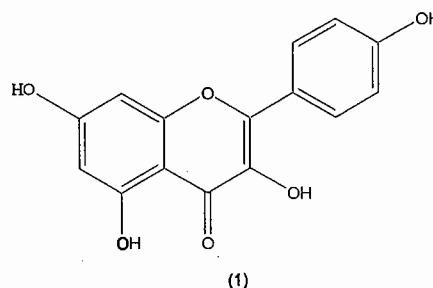
Uji pendahuluan aktivitas penangkap radikal bebas DPPH dilakukan dengan metode KLT autografi [7].

PERCOBAAN DAN HASIL PENELITIAN Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid

Dalam penelitian ini, sebanyak 1,5 kg serbuk daun *Chingia sakayensis* dimaserasi berturut-turut dengan pelarut n-heksana (31,5 L) selama 5 x 24 jam, pelarut diklorometana (25,5 L) selama 4 x 24 jam dan pelarut metanol (24,0 L) selama 4 x 24 jam. Hasil maserasi dengan pelarut metanol disaring secara vakum menggunakan penyaring Buchner. Filtrat yang diperoleh diuapkan secara vakum menggunakan penguap putar (*rotary evaporator*) menghasilkan padatan berwarna coklat sebanyak 203,5 gram (13,57%). Zat padat tersebut selanjutnya diekstraksi sebanyak empat kali, masing-masing dengan 400 ml campuran etil asetat – air (1:1) dalam corong pisah. Fraksi etil asetat yang diperoleh digabung dan diuapkan secara vakum dengan *rotary evaporator* menghasilkan zat padat berwarna coklat kehijauan sebanyak 28,3 gram (1,89%).

Sebanyak 8,34 gram ekstrak padat tersebut selanjutnya dipisahkan dengan cara kromatografi cair vakum (*vacuum liquid chromatography*) menggunakan fasa diam silika gel Merck G 60 for TLC serta eluen berturut-turut n-heksana, n-heksana-kloroform, kloroform, kloroform-metanol menghasilkan 200 fraksi (volume setiap fraksi 20 ml). Hasil pemisahan dimonitor dengan kromatografi lapis tipis. Gabungan fraksi 125-180 diuapkan secara vakum menghasilkan zat padat berwarna kuning kecoklatan sebanyak 270,8 mg (3,25%).

Sebanyak 202,3 mg zat padat tersebut dipisahkan dengan kromatografi cepat (*flash chromatography*) menggunakan fasa diam silika gel Merck G 60 230-400 mesh dan eluen kloroform : aseton = 4 : 1, menghasilkan 25 fraksi (volume setiap fraksi 10 ml). Setelah diperiksa dengan kromatografi lapis tipis, fraksi gabungan 6-9 hasil kromatografi cepat direkristalisasi dalam pelarut kloroform-aseton menghasilkan senyawa 3,5,7,4'-tetrahidroksi flavon (kaemferol) (1) berupa kristal berwarna kuning sebanyak 28 mg (0,34%) dengan titik leleh 271-273°C. Struktur molekul 3,5,7,4'-tetrahidroksi flavon (kaemferol) (1) dapat digambarkan sebagai berikut :



Senyawa kaemferol (1) hasil isolasi menunjukkan satu noda pada kromatografi lapis tipis (KLT) dengan tiga sistem eluen yaitu $R_f = 0,29$ (kloroform : aseton = 4 : 1), $R_f = 0,57$ (kloroform : aseton = 1 : 1) dan $R_f = 0,71$ (kloroform : metanol = 3:1). Uji kualitatif dengan reagen ferri klorida menunjukkan warna hijau. Hasil pengukuran spektrum ultraviolet (UV) dalam metanol (MeOH) : λ_{maks} (log ϵ) : 273 (2,87), 324 (bh) (2,63) dan 375 (2,85) nm; (MeOH + NaOH): 285 (3,91) dan 410 (3,69) nm; (MeOH+ AlCl_3): 276 (3,00), 312 (bh) (2,49), 355 (bh) (2,53) dan 432 (2,93) nm; (MeOH+ AlCl_3 +HCl): 276 (2,97), 311 (bh) (2,51), 355 (bh) (2,55) dan 432 (2,89) nm; (MeOH+NaOAc): 282 (2,97) dan 391 (2,81) nm dan (MeOH+NaOAc+ H_3BO_3): 274 (2,92) dan 375 (2,87) nm. Spektrum IR (KBr) ν_{maks} : 3333 (OH), 1659 (C=O), 1617, 1570, 1509, 1385, 1314, 1252, 1225, 1174, 1088, 1009, 976, 884 dan 818 cm^{-1} . Spektrum ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 6,18 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-6); 6,39 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-8); 6,90 (2H, d, $J = 9$ Hz, H-3' dan H-5') dan 8,08 (2H, d, $J = 9$ Hz, H-2' dan 6'). Spektrum ^{13}C -NMR (100,5 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 94,5 (C-8); 99,3 (C-6), 104,5 (C-10); 116,3 (C-3' dan C-5'); 123,7 (C-1'); 130,7 (C-2' dan C-6'); 137,1 (C-3), 148,1 (C-2), 158,3 (C-5); 160,5 (C-4'); 162,5 (C-9); 165,6 (C-7) dan 177,4 (C-4). Spektrum massa (FABMS), m/z : 287 ($\text{M}+\text{H}^+$), 286 (M^+), 257 ($\text{M}-\text{COH}$), 153 (A_1+H^+), 152 (A_1), 134 (B_1), 121 (B_2), 93 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}^+$), 77, 69, 55 dan 41.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antiradikal Bebas (Free Radical Scavenger) DPPH Dengan Metode KLT Autografi

Dalam uji aktivitas antiradikal bebas DPPH dengan metode KLT autografi ini sebanyak 1,0 mg kaemferol dilarutkan dalam 2,0 ml metanol, kemudian dikromatografi lapis tipis dengan eluen kloroform : aseton = 1 : 1. Setelah dikeringkan, pelat KLT disemprot dengan larutan DPPH 0,004% dalam metanol. Senyawa yang aktif sebagai penangkap radikal bebas akan memberikan bercak

kuning berlatar ungu setelah disimpan selama 30 menit [7].

Berdasarkan hasil uji KLT autografi ternyata senyawa kaemferol menunjukkan bercak kuning berlatar ungu. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas antiradikal bebas atau antioksidan. Namun demikian untuk menentukan kekuatan aktivitas antiradikal bebasnya harus dilakukan pengukuran harga EC_{50} .

PEMBAHASAN

Dari ekstrak diklorometana daun tumbuhan paku *Chingia sakayensis* telah ditemukan suatu senyawa flavonoid jenis flavonol yaitu 3,5,7,4'-tetrahidroksi flavon (kaemferol) (1). Adanya puncak maksimum pada daerah $\lambda = 273$ nm (pita II) dan 375 nm (pita I) dalam spektrum ultraviolet menunjukkan bahwa senyawa kaemferol merupakan flavonoid jenis flavonol yang memiliki gugus 3-OH bebas [8]. Keberadaan cincin aromatik dalam kaemferol ditunjukkan oleh munculnya puncak tajam pada daerah 1617, 1570 dan 1509 cm^{-1} dalam spektrum IR yang menyatakan vibrasi ulur C=C aromatik. Adanya cincin aromatik juga didukung sinyal pada daerah pergeseran kimia (δ): 6,18; 6,39; 6,90 dan 8,08 ppm dalam spektrum 1H -NMR yang dihasilkan oleh proton aromatik. Adanya gugus OH didukung oleh data spektrum IR yang memberikan puncak serapan pada daerah 3333 cm^{-1} dan 1385 cm^{-1} yang masing-masing menyatakan vibrasi ulur OH dan vibrasi tekuk OH. Hal tersebut juga diperkuat dengan munculnya puncak vibrasi ulur C-O pada daerah 1252 dan 1225 cm^{-1} . Gugus karbonil (C=O) pada C-4 dalam kaemferol ditunjukkan oleh puncak pada daerah 1659 cm^{-1} dalam spektrum IR.

Adanya gugus OH fenolik dalam kaemferol ditunjukkan oleh terbentuknya senyawa kompleks berwarna hijau setelah senyawa tersebut direaksikan dengan pereaksi ferri klorida ($FeCl_3$). Pergeseran batokromik pita I sebesar 35 nm (dari 375 ke 410 nm) setelah penambahan reagen NaOH dalam spektrum UV menyatakan bahwa kaemferol memiliki gugus OH pada atom C-4'. Penambahan pereaksi $AlCl_3 + HCl$ menyebabkan terjadinya pergeseran batokromik pita I sebesar 57 nm (dari 375 ke 432 nm). Hal tersebut menunjukkan bahwa kaemferol mengandung gugus OH pada C-5. Pergeseran batokromik pita II sebesar 9 nm setelah penambahan pereaksi natrium asetat menyatakan adanya gugus OH pada atom C-7 dalam kaemferol. Tidak terjadinya pergeseran puncak serapan dalam spektrum UV setelah penambahan natrium asetat + asam borat menunjukkan bahwa di dalam molekul kaemferol tidak terdapat gugus orto di OH.

Puncak ion molekul pada $m/z = 286$ sesuai untuk kaemferol yang memiliki rumus molekul $C_{15}H_{10}O_6$. Puncak ion fragmen pada $m/z = 152$ ($C_7H_4O_4$)⁺ dan $m/z = 134$ ($C_8H_6O_2$)⁺ merupakan hasil dari reaksi retro Diels-Alder dari kaemferol. Lepasnya gugus COH dari ion molekul ($C_{15}H_{10}O_6$)⁺ ($m/z = 286$) menghasilkan ion fragmen dengan $m/z = 257$ ($C_{14}H_9O_5$)⁺.

Dugaan struktur molekul kaemferol diperkuat dengan data spektrum korelasi heteronuklir HMQC dan HMBC dari senyawa isolat. Data-data spektroskopi senyawa kaemferol hasil isolasi ternyata juga memiliki kesesuaian yang sangat tinggi dengan senyawa kaemferol yang telah ditemukan oleh Li Bin [9] dari tumbuhan *Camellia oleifera* Abel (Tabel 1).

Tabel 1 Perbandingan Data Spektrum UV, IR, 1H -NMR, ^{13}C -NMR dan MS Antara Senyawa Isolat Dengan Kaemferol (Li Bin, 2003)

UV		IR		1H -NMR		^{13}C -NMR		MS	
Kaemferol	Isolat	Kaemferol	Isolat	Kaemferol	Isolat	Kaemferol	Isolat	Kaemferol	Isolat
265	273	3321	3333	6,2	6,18	176,4	177,3	286	286
327 (bh)	324(bh)	1654	1659	6,5	6,39	165,1	165,6	258	257
365	375	1607	1617	7,0	6,90	161,8	162,5	153	153
		1503	1509	8,1	8,08	160,2	160,5	121	121
		1378	1385			157,6	158,3	93	93
		1180	1175			147,0	148,1	77	77
		1101	1088			136,4	137,1	69	69
		985	976			130,3	130,7		
		820	818			123,0	123,7		
						116,2	116,3		
						103,9	104,5		
						99,0	99,3		
						94,3	94,5		

Senyawa kaemferol ternyata menunjukkan hasil yang positif pada uji aktivitas penangkap radikal bebas DPPH menggunakan metode KLT autografi. Dengan demikian senyawa tersebut memiliki potensi sebagai zat antiradikal bebas atau antioksidan. Sifat ini sesuai dengan struktur molekul kaemferol yang memiliki gugus OH fenolik pada atom C-5, C-7, C-4' serta gugus OH pada atom C-3 yang mudah teroksidasi oleh suatu radikal bebas maupun oksidator lainnya.

KESIMPULAN

Suatu senyawa flavonol yang bernama 3,5,7,4'-tetrahidroksi flavon (kaemferol) telah berhasil diisolasi dari fraksi etil asetat ekstrak metanol daun tumbuhan paku *Chingia sakayensis*. Senyawa flavonoid tersebut ditemukan berupa kristal berwarna kuning dengan titik leleh 271-273 °C. Senyawa tersebut memiliki potensi sebagai bahan antiradikal bebas atau antioksidan karena menunjukkan hasil positif pada uji pendahuluan aktivitas penangkap radikal bebas DPPH dengan metode KLT autografi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Prana, M.S., 1983, *Buletin Kebun Raya Bogor*, 6, 29-32.
2. Jones, S.B. and Luchsinger, A.E., 1987, *Plant Systematics*, Mc Graw-Hill Book Company, New York :
3. Sastrapradja, S., 1980, *Jenis Paku Indonesia*, Balai Pustaka, Jakarta.
4. Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid 1, Dephut, Jakarta.
5. Hassler, M., 2002, *Family Thelypteridaceae, Genus Chingia; World Species List*, Website : <http://homepages.caverock.net.nz/~bj/fern/chingia.htm>.
6. Steenish, V., and Holttum, R.E., 1988, *Flora Malesiana*, Martinus Nijhoff / DR.W.Junk Publisher, London.
7. Ervina, M, Soediro, I.S. dan Kusmardiyani, S., 2002, *Jurnal Obat Bahan Alam*, 1, 1, 7-15.
8. Markam, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, (Penerjemah : Padmawinata, K.) ITB Press, Bandung.
9. Bin, L., and Yongming, L., 2003, *Studies on Chemical Constituents of Camellia oleifera Abel*, Website : <http://www.Chemistrymag.org/cji/2003/053020ne.htm>.